



TITLE:

泌尿器科領域におけるポーラログ ラフ的研究 第1篇: ポーラログラフ 的血清反応について

AUTHOR(S):

林, 法信

CITATION:

林, 法信. 泌尿器科領域におけるポーラログラフ的研究 第1篇: ポーラログラフ的血清反応について. 泌尿器科紀要 1960, 6(9): 753-762

ISSUE DATE:

1960-09

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/112011>

RIGHT:

泌尿器科領域におけるポーラログラフ的研究

第1篇 ポーラログラフ的血清反応について

広島大学医学部皮膚科泌尿器科教室（主任 加藤篤二教授）

助 手 林 法 信

Polarographic Studies on the Diseases of Urogenital Organs

Report 1 Polarographic Serum Reaction

Norinobu HAYASHI, M. D.

*From the Department of Dermatology and Urology, Hiroshima**University, Medical School, Hiroshima, Japan**(Director : Prof. Tokuji Kato)*

Polarographic studies on various pathological condition in urogenital organs have been made by the author since 1956. The Brdicka's polarographic serum reaction has been clinically applied as one of the methods making a differential diagnosis for carcinoma, though it can not be considered to be a specific reaction only for cancer.

In this Report 1, at first, many previous articles describing the mechanism of occurrence of the polarographic protein wave and the significances of the first and second waves and clinical significances of the filtrate and digest tests have been reviewed. Since the basic problems, however, on the mechanism of occurrence of the protein wave have not yet been settled, it is not easy to appreciate each phenomenon exactly which appears in the reaction. Consequently, when it is tried to apply the polarographic serum reaction to a clinical examination, a limitation of clinical use should always be taken into considerations.

The results of polarographic experiments on various pathological condition in urogenital organs will be shown in Report 2, and the relationship between those data and other clinical examinations will be described in Report 3.

目 次

- I. 緒言
- II. ポーラログラフ的血清反応の研究の発展とその展望
- III. 蛋白波発生機序
- IV. ポーラログラフ的血清反応
 - (i) 第1波・第2波の意義
 - (ii) 第1反応（直接法）
 - (iii) 第2反応（汙液法）

I 緒 言

著者がここで述べる“Polarographic serum

reaction”とは Brdička¹⁻⁹⁾が癌診断に利用した血清ポーラログラフ的癌反応のことである。

しかしこの反応は特に癌特異性でないという点で、ここでは Österlind¹⁰⁾, Müller¹¹⁾ 達の報文に従い、敢て、癌反応と呼ばないで血清蛋白のポーラログラフ的反応なる表現を用いる。

本邦における本反応の臨床医学への応用は比較的近年であつて、1940年以来の笹井等の報告とその紹介¹²⁻³⁰⁾。次いで滝本・和田⁵³⁾等の業績³¹⁻⁶²⁾による貢献が大きく、近時漸くその医学領域における実験的、臨床的研究が旺とな

つて来た。

著者は1956年以来、泌尿器科領域における各種疾患についてポーラログラフ的研究を行つて来た。これらの実験成績は第2篇に、そして臨床的諸検査成績との関係については第3篇において報告する。

本法が Brdička (1933) によつて発表されて以来、その検出感度が高いにも拘らずその発生機構の詳細が適確に解明されないうちに、臨床応用面の研究が急速に進展したために現在なお多くの未解決の問題が残されている。従つてこれの臨床応用の研究殊に癌鑑別診断に対する評価には多くの異論が述べられている。それ故著者はこの反応がもつ臨床的意義とその限界を把握する必要性を感じたので、研究報告に先立ちその特性と発展の経過を調べ、これらの点を検討し、更に実験上の基本的事項について述べる。なおポーラログラフ法の医学・薬学・生物学への応用についての解説書⁷⁵⁻⁸³⁾および総説も多くみられるので、その詳細は原著^{18,23,24,28,30,53,56,61,62,84-88)}にゆずる。

Ⅱ ポーラログラフの血清反応の研究 の発展とその展望

ポーラログラフ法⁷⁴⁾による癌反応の研究は Brdička (1933)⁶⁴⁾の蛋白二重波の発見に端を発する。彼はポーラログラフを用いてアンモニア緩衝液中のコバルトの還元過程を研究中、たまたま手許にあつた血清を極大抑制剤として使用した処、コバルトの極大は抑制され新しく二つの極大が $-1.6V$ および $-1.8V$ の辺りに現われるのを見出した。そしてこの成因の解明のため彼は蛋白質構成アミノ酸について検討⁶⁴⁾し、システイン或はシステインをもつ蛋白質のみがこの二重波を示すことを明かにした。更に続いて Wieland の不安定水素説⁶⁵⁾、Schubert のコバルト・システイン配位化合物の知見を緩衝溶液の影響^{66,67)}についての実験結果と併せ考え、蛋白質分子中の SH, SS 基が二重波発生に主役を演じていると論じ^{64,89)}、その本体は水素の接触還元による極大電流であるとしたのである。

一方、当時血清学の分野では不活性化した papain や cathepsin を活性化する能力が、癌患者血清では正常人血清よりも低下しているとの Purr・Russel⁶⁸⁾の発見があり、過去の研究者達の成績^{69,70)}に基づいて、この活性作用は血清蛋白の SH 基に原因するもの

であり、癌血清では SH 基活性作用の低下があると結論した⁷¹⁾ (1935)。

また Waldschmidt-Leitz⁷²⁾およびその協同研究者達⁷³⁾は、癌血清における SH 酵素の活性効果は正常人におけるよりも小さく、且つ 1/2 にも達しないことを見出し、このことを診断学的に応用した。

このような当時の趨勢にあつて Brdička はポーラログラフ蛋白二重波を血清学的癌診断に応用して早期診断法としての有効性を報告するに至り^{1,2,3)}、更に続いて Waldschmidt-Leitz^{90,91)}等の報告も現われ、ここにポーラログラフ癌反応の研究が誕生したのである。

すなわち、最初 Brdička はコバルト塩のアンモニア緩衝液にそれぞれ等量の癌血清あるいは正常人血清を加え、各々のポーラログラムをとると、その蛋白波は癌血清を加えたものの方が他より低い波を示した。しかしそれら蛋白波波高の差異は非常に小さく、鑑別診断的価値がなかつたが、血清を変性 (苛性加里、塩酸ペプシン、加熱等にて) して用いると、両者の差異は大きくなり、癌血清ではさらに明かな蛋白波波高の低下がみられた (第1反応、直接反応¹⁸⁾、Digest Test⁹²⁻⁹⁴⁾と呼ぶ) この波高の高低によつて癌の早期診断の可能性を報告し、癌患者血清の示す蛋白波を特に“癌反応”と称してポーラログラフ蛋白波を癌診断に応用する道を拓いた。

この癌反応は多くの研究者によつてその追試成績が発表された。Brdička^{8,9)}、Waldschmidt-Leitz⁹¹⁾、Tropp⁹²⁾等の成績では90-94%の陽性率を、Bernhard^{96,97)}は 87.5%、Mayer-Heck⁹⁸⁾の追試は 71%であつた。明かな癌でもこのように10-20%に陰性があり、癌以外の疾患でも発熱性、炎症性、滲出性疾患では同率あるいはそれ以上の高い陽性率を示すことが明かにされた。それ故この反応は癌特異性としての価値が少なく、他のこの種の癌反応と同じく非特異性反応にすぎなかつた。癌血清は SH 活性度が低下しているという Waldschmidt-Leitz 等の考えは、一応ポーラログラフ的に根拠づけられたが、低蛋白 (血) 症の場合にも必然的に低値を示すので、癌の際の低値も真の SH 活性低下によるものか、癌の場合常に見られる低蛋白症の結果であるのか判然としないので、この方法 (直接法) は臨床的には余り顧みられなくなつた。

ポーラログラフ的癌反応は其後、Brdička⁸⁾の協力によつて Waldschmidt-Leitz・Mayer^{90,91,130)}等が血清の変性後ズルホサルチル酸で除蛋白し、その濾液を用いる濾液反応 (第2反応、間接反応¹⁸⁾、Filtrate

Test⁹²⁻⁹⁴)と呼ぶ)を発表した。

すなわち汙液蛋白波は対照とのひらきが大きく、反応が鋭敏で、直接法とは逆に癌では正常人よりも高い波を示した。汙液反応の追試成績では、Waldschmidt-Leitz⁹¹⁾等は96%, Brdička^{1,3)}は97%, Bergh^{99,100)}等は100%, Mayer-Heck⁹⁸⁾は83%, Felkel¹⁰¹⁾は90%, Griessmann¹⁰²⁾等は85%, Chytrek¹⁰³⁾は92%, 笹井¹⁸⁾は80%, 和田⁶⁸⁾等は93.8%, 品川¹⁴⁵⁾等は84.9%の陽性率を認めた。

現在癌反応としては直接法よりも陽性率が高く、その変性血清の不安定性に反し、汙液血清の安定性という点からも、汙液法が好んで多くの臨床的研究に用いられている。しかしながら汙液法の場合でも直接法と同じく、非特異性反応であるという致命的な欠陥をまぬがれることは出来なかつた。

癌および炎症性疾患において、このような共通反応があることから、その本態の解明を試みるためにこれら疾患の病態生化学的究明と同時に、血清蛋白波の発生因子への追求が行われた。

幸いこの汙液反応因子については、Waldschmidt-Leitz・Mayer^{90,91,136)}等は Mucoid 様物質 (Mc) であろうと考え、Winzler・Burk¹⁰⁴⁾等は初め Proteose と考えたが後に Mucoprotein (Mp) であることを明かにした¹⁰⁵⁻¹¹¹⁾。Waldron・Woodhouse^{112,113)}および Wheatley・Valenta¹¹⁴⁾等も Mp であることを認めている。笹井等^{18,23,24,29,30,115)}、佐藤・柴田・大原等^{32,55,56,61,62)}も汙液物質の物理化学的性状は Mp であることを同定¹¹⁸⁻¹²¹⁾し、これが臨床的に蛋白波波高の増減と化学分析測定値とに平行することを認めている^{116,117)}。

結局この亢進した汙液反応の本態は Mp の増加に基因する現象にはかならない。従つて本反応も癌の場合のみならず、炎症性疾患においても同様な高値を示すことが多く、若しこの癌性の活性因子と非癌性の活性因子とを何等かの方法によつて分離または鑑別することが可能であれば、癌診断の目的が達せられるわけであり、この目的にそつていくつかの試みが行われて来た。

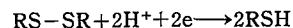
すなわち Waldschmidt-Leitz・Mayer⁹¹⁾のエタノール分割、Müller・Davis⁹²⁻⁹⁴⁾の直接反応波高値と汙液反応波高値との比をとる“Protein-Index”, 佐藤^{36,36,46-48)}の60%メタノール汙液とズルホサルチル酸除蛋白汙液の波高比をとる“SM-Inex”, Butler¹²²⁾の whole serum test と precipitated serum test との波高値の差と filtrate test の波高値との比をとる“Blood-Index”さらにまた Hasselbach・

Schwabe¹²³⁾の硫酸亜鉛添加汙液反応という方法が提唱された。このように癌鑑別診断法としての応用価値を高めるために、このような種々な方法に考案が加えられ、その臨床応用成績が報告されるに至つた。しかしながらこれらの方法が凡て全面的に承認されているわけではない。

蛋白波発生機序

蛋白波と蛋白濃度との関係について Brdička は Langmuir の吸着等温式を適用^{9,65,124)}し、波高は滴水銀極上の蛋白濃度に比例し、さらに蛋白質中のポーログラフ的活性基の数に比例して増加するが、それは吸着等温曲線的に平行することを指摘している。Müller・Davis⁹²⁾は蛋白波の波高は水銀滴下時間の変化によつては殆ど影響されず、水銀滴の表面積または毛細管孔の大きさに大体比例することを述べている。このように蛋白波の波形および波高は、(1)アンモニア、塩化アンモン、緩衝液の組成、コバルト濃度および温度条件その他、水銀流出量、滴下時間、毛細管孔の大きさ等ポーログラフ上の条件、(2)蛋白濃度、(3)蛋白質の構造(変性の度)の3要件で決定されるのであるから¹⁸⁾、波高の高低を対象とするポーログラフ的研究では常に同一条件下で実験測定し、比較しなければならない。

Brdička^{9,64,65,89)}はシステインのSH基がコバルトと錯化合物を形成して活性化され、電場の影響でその基の水素が不安定化され、滴水銀電極界面でこの水素が析出するために電流が流れ、接触水素波(システイン波)を形成するという不安定水素説を提唱した。システインについても滴水銀電極でシステインに還元され、



の如く、以後システインと同様の形式をとつて、同一機序を営むものであろうと説明している。

蛋白波においても蛋白を構成するシステインあるいはシステインによつてシステインと同様な現象が起るものと類推した。しかしヘキサミン・コバルト(3価)のアンモニア緩衝溶液中ではシステインによる接触波は現われない。蛋白質ではコバルトアミンが電極で2価に還元後、蛋白質との錯化合物が形成される。蛋白の場合はシステイン単独の場合よりもSH基が活性であるため、より陽の電位に接触波が出現すると説明している¹²⁴⁾。

Stromberg¹²⁵⁾は電極で析出したコバルト上に吸着されたSH基による水素過電圧の低下によつて蛋白波が現われ、この吸着は錯化合物中のシステインの硫

黄とコバルトとの間の Co-ordinative bond に由来すると述べている。しかしながらこれらの説のみでは、蛋白二重波の説明は不十分である。

最近品川・根津^{142,143)}等はこの接触水素波の問題をコバルトを周る錯形成と界面活性物質の吸着現象が電極反応に及ぼす影響に焦点を合わせて研究中であり、この問題解明のため各種の電気化学的方法を用いて試みている。すなわち通常ポーラログラフ、交流ポーラログラフ、オキシログラフ・ポーラログラフ、放射能ポーラログラフ等を用いて、前述の二点を精細に検討し、接触水素波を生ぜしめる触媒として、コバルトのシンテインまたは蛋白質の錯体を考え、極大・極小現象は界面活性物質の電極に対する吸脱着に関係が深いことを見出している。

IV ポーラログラフ的血清反応

ポーラログラフ的血清反応には大別して血清あるいは変性血清を用いる直接反応 (法) (第1反応) と血清の除蛋白剤による汙液を用いる汙液反応 (法) (第2反応) とがあることは既に述べた。次にこれらの血清反応における蛋白二重波の示す第1波 (W_1)、第2波 (W_2) の意義に対する解釈について述べる。

(i) 第1波・第2波の意義

前述の如く、シスチンは2価のコバルトの存在において単一な波 (シスチン波) を示すが、蛋白は2価、3価のコバルト溶液において2つの極大を有する波を示す。この両者の差異あるいはこの2種の極大の性質に関しては十分に解明し尽くされていない。

しかし Brdička⁹⁾は蛋白波の波高の差異や波形の相違は、多分シスチンまたはシステインの蛋白質分子の構成核中における結合のちがいによるものであり、また電極における接触反応が SH 基に隣接したある種の蛋白基によっても影響され変化するのであろうと考えている。この見解を支持するものとして、アンモニアを過剰に加えたときに2つの極大は重なつてまいる単一な波 (ややシスチン波に似る) になる現象を挙げている。

一方 Tropp Jühling¹²⁷⁾等は W_2 はシスチン波と同じ電位で出現するので蛋白のシスチンおよびシステイン含量を表わし、遊離の SH 基 (システイン) に起因するものと考え、 W_1 は Acid-Amine または Di-ketopiperadine の様な特殊な結合 (Peptid 結合) に起因するものであろうと考えた。同じく Jühling¹²⁶⁾等は Fibrinogen を Trypsin で変性すると、蛋白波は $W_1 \cdot W_2$ ともに増強されるが、作用時間が長くな

ると W_1 は消失し、 W_2 の傾斜がきつくなることより、 W_1 は蛋白質のアミノ酸結合によるもので、 W_2 は蛋白質中のシスチン核によるものと推定した。最近

Müller⁷⁷⁾は血清を分割し単離した蛋白は3価のコバルト溶液で W_1 のみを示すことを観察し、 $W_1 \cdot W_2$ はそれぞれ異なつた蛋白結合に起因するものであり、 W_1 は含硫黄基は必要としないであろうと報告している。

また Millar¹²⁸⁾ はこれらの説とは反対の意見を述べ、酸性側の pH では $W_1 \cdot W_2$ とも Total potential SH の量 (蛋白の含有するシスチンあるいはシステインを全部システインに還元したときの μ moles RSH/g-protein であらわすに比例すると述べている。この間の矛盾については現在なお解決されていない。

秦⁸⁷⁾は Gelatin に SH 基を導入して Thioglycol-gelatin にすると、3価のコバルト溶液中で W_2 の電位に単一な波が現われることを観察し、Müller¹²⁹⁾ が報告している bovine albumin にシステインを加えて incubate すると3価のコバルトによつても、 W_2 が増加するということから考えて、 W_2 が蛋白の SH 基の性質および量と密接な関係を有することを確言している。

笹井^{29,30)}は汙液反応において変性した血清の汙液は変性しない生 (native) のそれよりも常に W_1 が低く、かつその際これに全く平行的にその Mp の多糖類が減少する事実を述べ、Balle-Helears¹³⁰⁾ は最近の報告、すなわち Cystamin というシスチン化合物が3価のコバルト緩衝液から単一な W_2 を示すことを確かめた後、この Cystamin に Tyrose という多糖類を添加したところ二重波をもつた波が形成されてくるのを認めた。Tyrose だけでは波が出現しないのであるから Cystamin に Tyrose が結合したために W_1 が形成されたものと考え、さらにある蛋白が示す蛋白波波高の限界値はシスチンまたはシステイン基と多糖類含有との比によつて決定されるという推論を述べ、品川・根津^{131,143)}はシステイン及び Tyrose 糖類などによるモデル実験の結果から、汙液二重波の W_1 は血清 Mp、すなわち蛋白と結合した Polysaccharides に起因し、 W_2 は SH または SS 基に由来するものと推論を述べている。

また滝本・和田⁶³⁾、佐藤・柴田・大原⁸²⁾等は汙液反応物質の本態についてその物理化学的性状を検討した結果、 W_1 に関与する因子は Mc ないし Mp 様の物質が考えられ、 W_2 にはこれと密接な関係をもつて一応システインないしシスチンの関与が肯定されると述

べている。

(ii) 第1反応 (直接法)

「一定量 (容量) の血清が呈する蛋白波の波高が癌やその他の病的血清では正常人の波高よりも低く、特に変性 (加熱・アルカリ・塩酸ペプシン等) するとその差異が著明になる」²⁴⁾これが直接法の原理である。癌の際の SH 活性の減少は波の低下として認められたが、期待した程には正常値との間に差異がなかった。癌の活性を組織細胞内の変化として追求している間に、血清に一定の変性操作を加えると mask されていた SH 基が露出されるために波高の増加を示すことが解り、これを血清反応にも応用する試みが相次いで発表されたことは前に述べた。笹井・江川^{13,16)}等は各種の血清について変性を行い、 $W_1 \cdot W_2$ の変動が相関性を示し、特に W_2 の変性度 ($W_1 \cdot W_2$ が生血清からどれだけ変位したかの度合) は W_1 より大きく、変性処理法としては KOH 変性が最も高い波を出すこと、コバルト塩では2価、3価いずれでも変りなく、血漿・血清いずれを使用しても大差はなく、さらに生血清はそのまま室温に放置する時は1週間内の波高の変動は極めて軽微で誤差範囲内にあること、そして変性過程には活性化と不活性化の2相があること、すなわち初め高まり (上昇相)、次いで低くなる (下降相) ことを観察し、Brdička の変性反応 (Digest reaction) は蛋白量による動揺があるにも拘らず一つの質的反応であつて、不安定な変性過程を観察するものであると述べている。これを規定するものは温度・時間・変性の強さであり、殊に温度の影響が大きい。ところが KOH 変性では 20°C 以下では第2の下降相が長時間起らないことを認め、それ故これより低い温度で検査すべきことを指摘している。

其後多くの研究者達^{16,77,95,132)}によつてこの反応の本態は第1に癌に伴う低蛋白症と第2に Albumin (AI) の減少と Globulin (GI) の増加に基づくことが明白となつた。従つてこれらの事項は何等癌に特異な所見ではなく、臨床応用の面では次第に顧みられなくなつた。

血清蛋白波の波高を比較する場合、血清蛋白質の“質”のほか“量”の影響を考慮しなければならない。このことは既に Tropp⁹⁶⁾も血清蛋白波の比較には血清中の蛋白量によつて補正しなければならないことを述べている。笹井・江川¹⁶⁾は正常な血清蛋白と変性血清蛋白について蛋白質の濃度と波高との関係を示す基準曲線を設定している。濃度補正を行つてポーログラフの血清反応を施行する時にみられる蛋白波は血清 AI/GI 比に相応する波高を示し、変性蛋白波高 (D

値) と生血清蛋白波高 (N値) との比は血清中の SH 活性度を表わすと述べている^{13,15,16,115)}。

第1反応の本態が AI・GI の量比に基づくことは既に認められているが、これらの関係については Tropp¹²⁷⁾は AI が GI よりも蛋白波波高が大であることを認め、Wedemeyer・Daur¹³³⁾、および Rusch・Me-loche・Klatt・Dirksen¹³⁴⁾等は血清中の AI 量と蛋白波の波高との間に平行関係があることを報告している。笹井¹⁶⁾等も血清より AI・GI を分離し比較すると AI は GI に比し非常に高い波を示し、変性処理によつて GI は殆ど波高の増大を示さないが、AI は著明な増加を示すことを観察し、本反応が本質的には AI・GI の量比に関係することを明確にし、臨床観察で AI/GI 比と一致しない場合は表面活性の S 含量の少ない干渉物質の存在によると論じている。この事実から AI/GI 比が小さいとき生血清でも変性血清でも低い波を呈することが理解出来るのである。

最近 Müller⁷⁷⁾は電気泳動的に純度を確かめた血清分割について詳細に研究し、直接反応は血清中の AI 含量によつて大体決定づけられ、 γ -GI は殆ど関係しないことを明かにしている。またネフローゼ患者の AI と正常人の AI を分離、比較して、両者の蛋白波に相違がないことを報告している。一方 Homolka¹³⁵⁾は沔紙電気泳動法について血清の各分割を分離し、各々について蛋白波を生と変性とについて比較したところ、重症下痢症の AI はその濃度に比し波が低く、さらにアルカリ変性による波高の増大度が正常人より著しく弱いと述べている。

さらに和田⁶¹⁾は直接反応は蛋白濃度特に AI のそれが支配的因子であるが、波高による定量は AI/GI の関係が不可分で現在までの実験法では、AI あるいはポーログラフの活性物質の中に特定の異常組成が生じた結果とは考え難いと述べている。

このように血清蛋白のどのような“質”的な変動の特性が蛋白波の波高の相連を示すかは未解決の問題である。

(iii) 第2反応 (沔液法)

「血清の S・A⁺ (ズルホサルチル酸) 沔液が呈する蛋白波が癌では正常人よりも著しく高く (血清の変性は必ずしも必要としない)、その鋭敏度は直接反応よりも良い」²⁴⁾ので主として沔液反応が臨床に応用されて来た。

沔液反応の方法にも研究者によつて種々の変法が行われているが、それは反応をより鋭敏にするために血清を変性するということである。変性法には物理的処理法 (レ線・紫外線・加熱等) によるものと化学的処

理法(酸・アルカリ・酵素等)によるものがあるが、結果も大同小異で臨床的には概して同意義である。笹井¹⁸⁾は KOH 変性が鋭敏であると言い、金沢・佐藤³³⁾等は各種反応手技の比較実験で KOH 変性 S・A 除蛋白法の W_1 の測定が最も高率かつ安定と述べている。Waldschmidt-Leitz⁹¹⁾, Meyer-Heck¹³⁷⁾, Forssberg・Nordland¹⁴⁴⁾, Österlind¹⁰⁾等は加熱変性を, Brdička^{6,7)}, Müller・Davis^{92,93)}, Butler¹²²⁾, Robinson・Warren¹⁴¹⁾等は KOH 変性を用いている。笹井¹⁸⁾は変性しない生血清を S・A で除蛋白した汙液を用いても原則的には全く同じ意味の成績が得られ、むしろ生血清汉液の波高(N値)が多くの場合高いことを知り、変性操作を省略した方が却って汉液物質の純粋な定量反応となる可能性のあること、前述¹⁸⁾のN値とD値(変性後除蛋白汉液の波高値)とを比較し、Dだけを検査する従来の方法は直接法の場合と異りあまり意味がなく、むしろNの方が有意義でありD/Nは血清の特性を表現し、疾患の強さと関係があり、臨床的価値があること、また直接法においては変性操作が絶対に必要であるが、汉液法では必要とせず、それ故汉液反応は血清中に存在する類蛋白体を蛋白波を用いて測定する反応であるということが出来、血清を変性することの意味は別個の研究対象としなければならぬと述べている³⁰⁾

Müller は汉液反応では W_2 の極大を目標とするとき、温度の影響は無視出来ると述べている。血清蛋白量についても本反応は直接反応の様に攪乱因子ではなく考慮しなくてもよい。これも本反応が直接反応よりすぐれている点である。その他実験上の注意^{18,69)}としては軽度の溶血は影響ないが、高度では直接反応の場合と同様抑制因子として作用するため用いられない。血清が古くなると Proteolysis のため直接反応よりも影響が強く陽性傾向となる。血清による差異もあるが2-3日内では大した変化はない。

この汉液反応物質の本態については、Brdička^{7,8)}は生体内に異種蛋白が移入されると、これに対応する抗酵素が発生する結果、生体個有の蛋白も分解して血中に Polypeptide が増加する。これが汉液物質であつてさらに分解排泄されるにおよび血清蛋白のSも欠乏状態になると推論したが、この説は多くの人達によつて否定されている。Waldschmidt-Leitz・Mayer^{90,91)}等はこの反応の本態に Mc の関与を推定し、炎症性のものと癌性のものとを66% Alcohol 分割により鑑別可能なることを発表した。Mayer¹³⁰⁾は S・A 汉液より Mc 様物質を得て、そのシスチン含量を正常と比較したが、特に癌血清に増量は認めなかつた。

Meyer-Heck^{98,137)}も本態は Mc 様物質と考えている。Winzler・Burk 等は最初 SH 活性 Polypeptide (Protease) と考え¹⁰⁴⁾、これが癌の際増加すると述べたが、その後この物質は Mp であることを認めた¹⁰⁵⁻¹¹¹⁾。

Waldron・Woodhouse^{112,113)}等も Mp であると述べている。佐藤・柴田・大原⁸²⁾等は汉液物質の物理化学的研究で Albumose 級の Polypeptide に類する糖蛋白体で、Mayer の分類に従う Mucopolysaccharide, Mucoïd, Mucoprotein, Glycoprotein のうちおそらくは Mp ないし Mc の範疇に属する物質であろうと推論し、本反応における W_1 の形成は一応 Mp, Mc 体によるもので、これと密接な関係をもつて W_2 はシスチンないしシステインがその形成に主役を演じているのだらうと考えている。さらに和田⁶¹⁾等はこれらの Mp, Mc に癌、炎症、正常での異質的相違の可能性を信じて居り、それらを癌診断の鑑別に応用することを試みている。また一方 Wheatley・Valenta¹¹⁴⁾は Mehl の Mp とたとえ同一でないとしても、非常に類似したものであることを証明し、癌に特異な性質のものではないと論じている。

この物質の物理化学的性状については(詳細は原著にゆずる)非透析性で S・A ではおちず、熱に安定で多糖類を含んだ分子量 44,000¹¹⁰⁾ という一つの蛋白分割であることが明らかにされている。Winzler 等によつて汉液蛋白すなわち血清 Mp は α -G1 分割と共に動くこと、和田⁶⁰⁾等によつてはM分割との相関性が知られている。笹井³⁰⁾は臨床的に汉液反応の高さと分割を比べて、 α -G1 量との相関が最も顕著で、次いで β -G1 分割であり、これに比べると著しく低い Δ 1 分割からも多少は波が出て来ることより、汉液蛋白すなわち血清 Mp は α -G1 分割と関係が最も密接であるが、ただこの様な一つの分割に限つて存在するのではなく、他の分割にも多少存在し且つそれらと複雑な相互関係を保っているであろうと論じている。Müller⁷⁷⁾は本反応と分割との関係について、汉液反応では α -, β -G1 の含量に加うに Mp の異常な量の存在によつて決定されると述べている。さらに笹井³⁰⁾は種々の臨床的観察より血清 Mp は決して均一構造を示すものではなく、疾患によつてはその血清 Mp の SH または SS 基の活性度か、多糖類かが特に著明に変化するであろうと述べている。

一方、Smith・Winzler・Mehl・Weimer¹⁰⁵⁻¹¹¹⁾等はいかかる Mp の分子量・等電点を測定し、さらに電気泳動的に Mp-1・2・3 の3種を分離し、これが癌や炎症では増量するが本質的には正常血清中のものと大体

同一の性質のものであろうと論じている。

このように本反応における Mp の役割やその特異性についても十分に解明されておらず、意見の一致をみないが、最近箱守¹³⁸⁾は癌を特徴づけているポーログラフの活性因子は、高分子性 Mp の増加以外に精製過程で比較的容易に除かれる低分子性 Mucopetideであることを明かにし、この癌の際特に増加する Mucopetide を“k-ムコポリペプチド^{139,140)}”と名付けた。そしてムコ蛋白やムコ多糖類が発癌と同時に正常と異なつた分子形態の変化を著明に示し、あるものは量的に著しく増加することを実験的に証明している。この知見は非常に興味があり今後さらにポーログラフ的血清反応の応用を發展させるものと考えられる。

またポーログラフ的血清反応を臨床的研究に適用する際、大きな困難の一つは、(1)実験成績の比較のための適当な規準がないこと、(2)別々の研究者によつて得られた実験データの比較を容易にするために、結果を表現する同一規準がないことである。この欠陥を除くために Müller^{92,93)}等は、(1) Protein index の表示方法を案出し、(2)波高(電流)の表現には、電極の単位表面積当りの電流値、すなわち $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ を統一して用いることを提案した。しかし笹井^{18,30)}は肝障害のような場合には異常度が相殺されてしまうので、直接反応と汙液反応の両反応が平行しない場合には Protein index は意味がないと論じている。

これらの批判を含みながらも、ポーログラフ血清反応の臨床成績に関する一般的な結論として、Robinson・Warren¹⁴¹⁾等は次の如く要約している。

(1) 正常血清の波高値と癌血清の波高値との間には部分的重複がある(約20%がこの範疇に入る)

(2) 波高の高さと悪性の発育度との間には統計学的に相互関係が存在する。

(3) 腫瘍の外科的切除やレ線照射の成功した場合は、その波高は正常の範囲に戻る。

(4) 腫瘍の転移が始まると波高は新たな漸増を示す(汙液法)

(5) 炎症、感染症その他の非癌性疾患が適当な治療によつて治癒して行く場合は、波高は進行性の減少を示す(汙液法)

以上に述べた如く、ポーログラフ蛋白波の応用研究に際して、蛋白波発生機構の基本問題が解決されなければ、生起した現象の全面的な評価が困難であることは勿論であるが、また一方、その構成の機序がモデル実験で明かにされても、臨床医学の応用面にみられる変化の解決は依然として我々に与えられた課題であ

る。

(稿を終るにあたり恩師加藤篤二教授の御指導、御校閲に感謝の意を表します。

またポーログラフ的研究に際し終始御懇篤な御指導、御校閲を頂いた広島大学理学部分析化学教室品川睦明教授に、さらに蛋白波の理論的解説殊に蛋白波発生機序に関して詳細に御教示を頂いた同教室根津弘幸理学修士に感謝の意を表します)

- 1) Brdička, R. Nature., 139 : 330, 1020, 1937.
- 2) Brdička, R. : Biol. Listy., 22 : 39, 1937.
- 3) Brdička, R. : Rozpr. II. tř. Čes. Akad., 47 : No. 4, 8, 1937.
- 4) Brdička, R. Acta Intern. Verein. Krebsbekämpfung., 3 : 13, 1938.
- 5) Brdička, R. Nature., 142 : 617, 1938.
- 6) Brdička, R. : Acta Rdiol. Cancerol. Boh-Mor., 2 : 7, 1939.
- 7) Brdička, R., Novák, F. V., Klumpar, J. : Ibid., 2 : 27, 1939.
- 8) Brdička, R. : Klin. Wochschr., 18 : 305, 1939.
- 9) Brdička, R. : Research, 1 : 25, 1947.
- 10) Österlind, S. : Acta physiol. scand., 34 : 1, 1955.
- 11) Müller, O. H. : Am. J. Physiol., 133 : 393, 1941.
- 12) 笹井 : 実験消化器病, 17 : 425, 1942.
- 13) 笹井・江川 : 京大化研報告集, 21 : 26, 1950.
- 14) 笹井・江川 : Ibid., 22 : 62, 1950.
- 15) 笹井・江川 : Ibid., 24 : 48, 1950.
- 16) 笹井・江川・宇佐美 : Ibid., 26 : 54, 1951.
- 17) 笹井・江川・岡 : Ibid., 31 : 1, 1953.
- 18) 笹井 : 最近のポーログラフイー (館篇) p 50, 1950.
- 19) Sasai, T., Egawa, M. : Proc. 1. Intern. Polarogr. Meet. Prague Part 1. 225, 1951.
- 20) Okajima, T., Sasai, T. : Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 31 : 435, 1953.
- 21) 笹井・江川 : 日消誌, 51 : 55, 1954.
- 22) Sasai, T., Iwano, K., Oka, M., Sakamoto, T. : Ibid., 51 : 56, 1954.
- 23) 笹井 : 内科宝函, 1 : 363, 1954.

- 24) 笹井：ポーラログラフイーの研究，2：35，1954.
- 25) 笹井：Ibid., 2：124, 1955.
- 26) 笹井・岩野・坂本：日消誌，52：372, 1955.
- 27) Sasai, T. : Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 34：321, 1956.
- 28) 笹井：生化学とポーラログラフイー（講演要旨集）XVII 1956.
- 29) Sasai, T., Kubo, K. : Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 36：30, 1958.
- 30) 笹井：ポーラログラフイー，5：26, 1959.
- 31) 柴田・金沢・鎌田・和田・大原 尾崎・宮崎：札幌医誌，3：161, 1952.
- 32) 佐藤・柴田・大原：Ibid., 4：359, 1953.
- 33) 金沢・佐藤・柴田・和田 Ibid., 4：253, 1953.
- 34) 佐藤（良） Ibid., 4：198, 1953.
- 35) 佐藤（良）：Ibid., 4：432, 1953.
- 36) 佐藤（良）：Ibid., 4：438, 1953.
- 37) 柴田：Ibid., 5：129, 1954.
- 38) 柴田・Ibid., 5：262, 1954.
- 39) 柴田 Ibid., 5：320, 1954.
- 40) 柴田：Ibid., 5：386, 1954.
- 41) 柴田：Ibid., 6：52, 1954.
- 42) 柴田：Ibid., 6：116, 1954.
- 43) 柴田：Ibid., 6：219, 1954.
- 44) 柴田：Ibid., 6：372, 1954.
- 45) 佐藤（良） Ibid., 6：125, 1954.
- 46) 佐藤（良）：Ibid., 6：228, 1954.
- 47) 佐藤（良）：Ibid., 6：234, 1954.
- 48) 佐藤（良）：Ibid., 6：304, 1954.
- 49) 佐藤（勝） - Ibid., 7：52, 1955.
- 50) 佐藤（勝）：Ibid., 7：59, 1955.
- 51) 佐藤（勝）：Ibid., 7：156, 1955.
- 52) 佐藤（勝）：Ibid., 7：239, 1955.
- 53) 滝本・和田 医学，14：131, 1953.
- 54) 滝本・和田 東・佐藤・柴田：Gann, 44：99, 1953.
- 55) 柴田：札幌医誌，4：259, 1953.
- 56) 和田・ポーラログラフイー，3：49, 1955.
- 57) 和田・大原 中島・佐々木 淡川・鎌田：Gann, 46：131, 1955.
- 58) 滝本・和田・佐藤・安齊・佐々木・大原・中島・淡川：日消誌，52：306, 1955.
- 59) 佐々木・淡川・黒坂・浦沢・大原：札幌医誌，9：170, 1956.
- 60) 佐々木・淡川・梅谷・大原：Ibid., 9：232, 1956.
- 61) 和田：癌の臨床，3：764, 1957.
- 62) 和田 大原：内科，1：974, 1958.
- 63) Brdička, R. : Coll. Czech. Chem. Comm., 5：112, 1933.
- 64) Brdička, R. Ibid., 5：148, 1933.
- 65) Brdička, R. : Biochem. Z., 272 104, 1934.
- 66) Brdička, R. : Coll. Czech. Chem. Comm., 8：366, 1936.
- 67) Brdička, R. : Rozpr. II tř. Ces. Akad., 47：No. 25, 1937.
- 68) Purr, A., Russell, M. : Z. physiol. Chem., 228：198, 1934.
- 69) Grassmann, W., Dyckerhoff, H., Schoenbeck, O. V. : Z. physiol. Chem., 186：193, 1929.
- 70) Waldschmidt-Leitz, E., Purr, A. : Ibid., 198：260, 1931.
- 71) Purr, A. : Biochem. J., 29：5, 13, 1935.
- 72) Waldschmidt-Leitz, E. : Angew. Chem., 15：916, 1936.
- 73) Waldschmidt-Leitz, E., Conrath, O., Gloeditsch, J. : Naturwissenschaften., 25：60, 1937.
- 74) Heyrovsky, J., Shikata, M. : Rec. Trav. Chim., 44：496, 1925.
- 75) Müller, O. H. : The Polarographic Method of Analysis. Chemical Education Publ. Easton, 1951.
- 76) Kolthoff, I. M., Lingane, J. J. : Polarography, Vol. I, II, Interscience, 1952.
- 77) Müller, O. H. : Electrochemistry in Biology and Medicine. Ed. Shedlovsky, T., p. 301, 1955.
- 78) Brezina, M., Zuman, P. Die Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie, Leipzig, 1956.
- 79) 品川：ポーラログラフ分析法，共立出版，東京，1952.
- 80) 館篇：ポーラログラフイー，岩波書店，東京，1954.
- 81) 石橋・藤永：ポーラログラフ分析法，丸善，東京，1956.
- 82) 鈴木・藤永：機器分析実験法，横書店，東

- 京, 1956, 1958.
- 83) 館・永田・竹盛: ポーラログラフ分析法 (分析化学講座), 共立出版, 1957.
- 84) 小出: ポーラログラフの研究, 2: 29, 1954.
- 85) 小出: 生化学とポーラログラフ (講演要旨集) VII, 1956.
- 86) 秦・松下: ポーラログラフの研究, 2: 122, 1955.
- 87) 秦: ポーラログラフ, 4: 11, 1956.
- 88) 秦: 生化学とポーラログラフ (講演要旨集) XVI, 1956.
- 89) Brdička, R.: Coll. Czech. Chem. Comm., 5: 238, 1933.
- 90) Waldschmidt-Leitz, E.: Angew. Chem., 51: 324, 1938.
- 91) Waldschmidt-Leitz, E., Mayer, K. Z. Physiol. Chem., 261: 1, 1939.
- 92) Müller, O. H., Davis, J. S. Jr.: J. Biol. Chem., 159: 667, 1945.
- 93) Müller, O. H., Davis, J. S. Jr.: Arch. Biochem., 15: 39, 1947.
- 94) Müller, O. H., Davis, J. S. Jr. Am. J. med. Sci., 220: 298, 1950.
- 95) Tropp, C. Klin. Wochschr., 17: 1141, 1938.
- 96) Bernhard, F.: Arch. Klin. Chirurg., 193: 543, 1938.
- 97) Bernhard, F.: Dtsch. med. Wochschr., 65: 596, 1939.
- 98) Meyer-Heck, P.: Z. Krebsforsch., 49: 560, 1939.
- 99) Bergh, F., Henriques, O. M., Shousboe, J. Nature, 141: 751, 1938.
- 100) Bergh, F., Henriques, O. M., Wolfbrandt, C. G.: Nature., 142: 212, 1938.
- 101) Felkel, R. K. Med. Klin., 34: 840, 1938.
- 102) Griessmann, H., Köhler, K., Söhnle, W. Chirurg., 10: 609, 1938.
- 103) Chytreck, E.: Dtsch. med. Wochschr., 66: 1190, 1940.
- 104) Winzler, R. J., Burk, D., Hasselbach, M. J. Nat. Cancer Inst., 4: 417, 1944.
- 105) Winzler, R. J., Devor, A. W., Mehl, J. W., Smyth, I. M.: J. Clin. Invest., 27: 609, 1948.
- 106) Winzler, R. J., Smyth, I. M.: Ibid., 27: 617, 1948.
- 107) Mehl, J. W., Humphrey, J., Winzler, R. J. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 72: 106, 1949.
- 108) Mehl, J. W., Golden, F., Winzler, R. J.: Ibid., 72: 110, 1949.
- 109) Weimer, H. E., Mehl, J. W., Winzler, R. J. J. Biol. Chem., 185: 561, 1950.
- 110) Smith, E. L., Brown, B., Weimer, H. E., Winzler, R. J.: Ibid., 185: 569, 1950.
- 111) Mehl, J. W., Golden, F.: J. Clin. Invest., 29: 1214, 1950.
- 112) Waldron, D. M., Woodhouse, D. L.: Nature, 166: 186, 1950.
- 113) Waldron, D. M. Biochem. J., 49: 58, 1951.
- 114) Wheatley, M., Valenta, Z.: Experimentia, 11: 438, 1955.
- 115) 江川 内科宝函, 4: 563, 647, 739, 1957.
- 116) 和田: 日本臨牀, 15: 520, 1957.
- 117) 和田・大原: 綜合臨牀, 6: 1473, 1957.
- 118) 吉田・熊原・藤田・福本: Gann., 43: 75, 1952.
- 119) 熊原: 阪大医誌, 8: 1307, 1956.
- 120) 和田・柴田・若山・鎌田 富樫: 札幌医誌, 5: 45, 1954.
- 121) 和田・大原・佐々木・中島・谷: Gann., 48: 305, 1957.
- 122) Butler, L. O. Brit. J. Cancer, 5: 225, 1951.
- 123) Hasselbach, H., Schwabe, K. Pharmazie, 10: 310, 1955; Naturwissenschaften, 40: 627, 1953. (30より引用)
- 124) Brdička, R. Coll. Czech. Chem. Comm., 11: 614, 1939.
- 125) Stromberg, A. G. Sh. fis. chim., 20: 409, 1946 (78より引用).
- 126) Jühling, L., Tropp, C., Wöhlisch, E. Z. physiol. Chem., 262: 210, 1939.
- 127) Tropp, C., Jühling, L., Geiger, F.: Ibid., 262: 225, 1939.
- 128) Millar, G. J.: Biochem. J., 53: 385, 393, 1953.
- 129) Müller, O. H. Fed. Proc., 14: 105,

- 1955.
- 130) Balle-Helears, E. : Bruxelles-Médical., 36 : 1, 1956 (29, 30より引用).
- 131) Shinagawa, M., Nezu, H. Polarographic Discussion Meeting on Oct. 18, 1957 at Kyoto Univ.
- 132) Kolthoff, I. M., Stricks, W., Morren, L., Heyndrickx, A. J. Nat. Cancer Inst., 14 : 1233, 1954.
- 133) Wedemeyer, H. E., Daur, Th. : Z. Krebsforsch., 49 : 10, 1939.
- 134) Rusch, H. P., Meloche, V. W., Klatt, T., Dirksen, A. J. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 44 : 362, 1940.
- 135) Homolka, J., Mydlil, V. : Ann. Paediatr., 185 : 129, 142, 1955.
- 136) Mayer, K. : Z. physiol. Chem., 275 : 16, 1942.
- 137) Meyer-Heck, P. : Z. Krebsforsch., 52 : 144, 1941.
- 138) 箱守 : 蛋白質・核酸・酵素, 4 : 6号, 14, (臨時増刊), 1959.
- 139) Masamune, H., Hakomori, S., Kaketa, H., Sugo, T. : Tohoku J. Exp. Med., 69 : 371, 1959.
- 140) Masamune, H., Hakomori, S., Sugo, T. Ibid., 69 : 383, 1959.
- 141) Robinson, A. M., Warren, F. L. J. Path. Bact., 60 : 152, 1948.
- 142) 品川・根津・砂原・中島 岡下 山田 : 2nd. International Congress of Polarography, Cambridge, England Aug., 1959 (印刷中)
- 143) Shinagawa, M., Nezu, H. : Bull. Chem. Soc. Japan, 33 : 272, 1960.
- 144) Forssberg, A., Nordlander, S. Acta Radiol., 33 : 165, 1950.
- 145) Shinagawa, M., Griffin, A. C., Dale, S. : Annual Symposium of M. D. Anderson Hospital, Houston, Texas March, 1956.